



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CEILÂNDIA
CURSO DE FARMÁCIA**

LUÍMA MACEDO RODRIGUES

**DESENVOLVIMENTO E ESTUDO DE ESTABILIDADE PRELIMINAR DE
EMULSÕES ÓLEO/ÁGUA (O/A) A BASE DE ÓLEOS VEGETAIS PARA
PREVENÇÃO E/OU ADJUVANTE NO TRATAMENTO DE ÚLCERAS POR
PRESSÃO.**

BRASÍLIA, DF

2013

LUÍMA MACEDO RODRIGUES

**DESENVOLVIMENTO E ESTUDO DE ESTABILIDADE PRELIMINAR DE
EMULSÕES ÓLEO/ÁGUA (O/A) A BASE DE ÓLEOS VEGETAIS PARA
PREVENÇÃO E/OU ADJUVANTE NO TRATAMENTO DE ÚLCERAS POR
PRESSÃO.**

Monografia de Conclusão de Curso
apresentada como requisito parcial para
obtenção do grau de Farmacêutico, na
Universidade de Brasília, Faculdade de
Ceilândia.

Orientadora: Profa. Dra. Lívia Cristina Lira de Sá Barreto

Co-orientadora: Profa. Dra. Camila Alves Arede

BRASÍLIA, DF

2013

LUÍMA MACEDO RODRIGUES

**DESENVOLVIMENTO E ESTUDO DE ESTABILIDADE PRELIMINAR DE
EMULSÕES ÓLEO/ÁGUA (O/A) A BASE DE ÓLEOS VEGETAIS PARA
PREVENÇÃO E/OU ADJUVANTE NO TRATAMENTO DE ÚLCERAS POR
PRESSÃO.**

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Profa. Dra. Lívia Cristina Lira de Sá Barreto
(FCE/Universidade de Brasília)

Co-Orientadora: Profa. Dra. Camila Alves Arede
(FCE/Universidade de Brasília)

Profa. Msc. Micheline Marie Milward de Azevedo Meiners
(FCE/Universidade de Brasília)

BRASÍLIA, DF

2013

AGRADECIMENTOS

A Deus que com sua imensa sabedoria sempre me protegeu e me deu força nessa longa caminhada.

Aos meus pais Giovani e Iraídes, que sempre estiveram ao meu lado, dando força e apoio, sem nunca medir esforços para que eu alcançasse meus objetivos.

À minha irmã Ilana, que sempre me incentivou a lutar pelos meus sonhos, além de ser uma grande amiga com quem poderei contar sempre.

Ao meu namorado Daniel, pelo amor, companheirismo, paciência e apoio durante essa jornada.

À minha orientadora Livia, pela dedicação e profissionalismo.

À Profa. Dra. Daniela Castilho Orsi, pelo auxílio na produção dos meios de cultivo.

À Profa. Dra. Izabel Cristina Rodrigues da Silva, pela assistência nas análises estatísticas.

À colega de curso Andressa Reis Guimarães Teixeira, pela ajuda durante os experimentos.

“O êxito da vida não se mede pelo que você conquistou, mas sim pelas dificuldades que superou no caminho.”

Abraham Lincoln

RESUMO

O desenvolvimento de novas formulações farmacêuticas tem aumentado nos últimos anos, principalmente pela utilização de ativos de origem vegetal que quando incorporados a essas preparações podem dar origem a medicamentos ou cosméticos inovadores. Este trabalho teve como objetivo desenvolver e realizar estudos de estabilidade preliminar de emulsões destinadas à aplicação tópica, contendo óleos vegetais (soja, azeite de oliva e girassol) em iguais proporções, utilizando dois diferentes agentes emulsionantes não-iônicos em associação ou não. Para a análise do perfil de estabilidade observou-se os parâmetros organolépticos, pH, espalhabilidade, viscosidade e contagem de microrganismos totais de amostras submetidas a distintas condições de temperatura (5°C, 20°C e 40°C), durante 15 dias. A análise dos resultados permitiu a demonstração de boa estabilidade para todas as formulações elaboradas. No entanto, a formulação que apresentava associação de agentes emulgentes apresentou maior regularidade dos valores encontrados nas distintas análises realizadas. O estudo sugere ainda mudanças na composição das formulações, assim como alterações na metodologia do estudo com a realização das análises por um período maior.

Palavras-Chave: Óleos vegetais. Emulsões. Estabilidade preliminar.

ABSTRACT

The development of new pharmaceutical formulations has increased in the late years, especially by the use of active plant that when incorporated into such preparations may lead to innovative drugs or cosmetics. This study aimed to develop and conduct preliminary stability studies of emulsions intended for topical application, containing vegetable oils (soybean, olive and sunflower) in equal proportions, using two different non- ionic emulsifiers association or not. To analyze the stability profile was observed organoleptic parameters, pH, spreadability, viscosity and total microbial score samples subjected to different temperature conditions (5°C, 20°C and 40°C) for 15 days. The results allowed the demonstration of good stability for all formulations prepared. However, the formulation of agents that presented emulsifiers regularity exhibited higher values observed in the different analyzes. The study also suggests changes in the composition of the formulations, as well as changes in the methodology of the study with the analyzes for a longer period.

Keywords: Vegetable Oils. Emulsions. Preliminary Stability.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGE- Ácidos graxos essenciais

BHT- Butil-hidroxi-tolueno

Ce-200 – Álcool cetosteárilico etoxilado

E- Estufa

F1- Formulação 1

F2- Formulação 2

F3- Formulação 3

G- Geladeira

m.Pa- Milipascal

NaOH- Hidróxido de sódio

O/A- Óleo/Água

pH- potencial hidrogeniônico

rpm- Rotações por minuto

TA- Temperatura ambiente

UD- Úlceras de decúbito

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO COM REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	9
1.1 Pele.....	9
1.2 Úlceras por pressão	11
1.3 Óleos fixos	12
1.4 Desenvolvimento de emulsões	14
2. JUSTIFICATIVA	15
3. OBJETIVOS	16
3.1 Objetivo geral.....	16
3.2 Objetivos específicos	16
4. METODOLOGIA.....	17
4.1. Componentes das formulações.....	17
4.2. Equipamentos	17
4.3. Formulações	17
4.4. Procedimentos	18
4.5. Estudo de estabilidade preliminar	18
4.5.1 Avaliação organoléptica.....	19
4.5.2 Avaliação físico-química	19
4.5.3 Avaliação microbiológica	22
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	22
5.1 AVALIAÇÃO ORGANOLÉPTICA.....	22
5.2 AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA	28
5.2.1 Determinação do pH	28
5.2.2 Teste de centrifugação	29
5.2.3 Espalhabilidade.....	32
5.2.4 Viscosidade	35
5.3 Avaliação microbiológica.....	36
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	37
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39

1. INTRODUÇÃO COM REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 PELE

A pele é considerada o maior órgão do corpo humano, constituindo 16% do peso corporal. Além de revestir a superfície externa do corpo, protegendo-a, outras funções atribuídas a esse órgão são: controle de temperatura, sensorial, estética, absorção da radiação UV, síntese de vitamina D, absorção e eliminação de substâncias químicas (RIBEIRO, 2010).

Apresenta potencial hidrogeniônico (pH) levemente ácido (4,6 – 6,0), que contribui na proteção bactericida e fungicida em sua superfície. Além disso, as secreções cutâneas apresentam capacidade tamponante, essencial para a manutenção da homeostase, uma vez que o pH da superfície da pele, com frequência sofre alterações em consequência da utilização de produtos tópicos inadequados, expondo a pele a uma série de agentes agressores, em especial microrganismos (LEONARDI; GASPAR; CAMPOS, 2002).

Considerada um órgão de revestimento complexo e heterogêneo, e estruturalmente consiste em duas partes principais (Figura 1). A camada superficial da pele, e também a mais fina, é composta de tecido epitelial, a epiderme. A parte mais profunda consiste em tecido conjuntivo, a derme. Logo abaixo, e não fazendo parte da pele, há a camada subcutânea formada por tecido adiposo, a hipoderme (TORTORA; GRABOWSKI, 2002; GARTNER; HIATT, 2003).

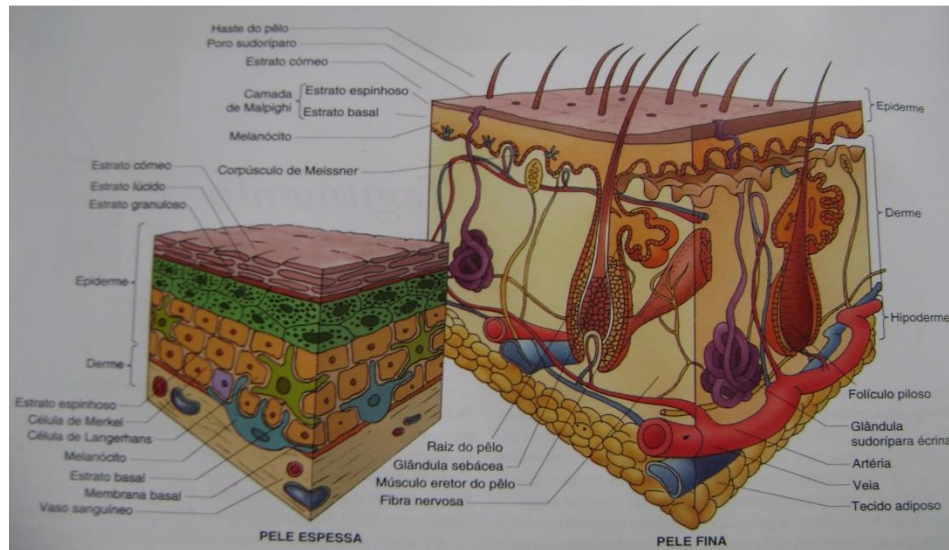


Figura 1 - Desenho esquemático das estruturas da pele.

Fonte: GARTNER, L. P.; HIATT, J. L. **Tratado de Histologia em cores**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. p. 266.

A epiderme protege o organismo ao impedir a entrada de substâncias nocivas e evita a evaporação excessiva de água, exercendo desse modo uma função de barreira. A derme proporciona resistência física ao corpo frente a agressões mecânicas, fornece nutrientes à epiderme e abrigam os apêndices cutâneos, vasos sanguíneos e linfáticos, células de natureza conjuntiva e de origem sanguínea. A hipoderme é considerada o depósito nutritivo de reserva, participa no isolamento térmico e na proteção mecânica às pressões e traumatismos, além de facilitar a motilidade da pele em relação às estruturas subjacentes (RIBEIRO, 2010).

A pele é uma importante barreira contra agressores físicos, químicos e biológicos. Os mecanismos de defesa variam desde a secreção sebácea, com ação protetora e antimicrobiana, até as mais específicas e complexas funções imunológicas. O agente agressor externo representa um estímulo nocivo capaz de ativar vários mecanismos de adaptação celular. Quando ocorrem mudanças adaptativas instalam-se danos celulares que, dependendo do estágio, podem ou não ser revertidos. Caso o estímulo seja severo ou persistente, sucedem danos celulares irreversíveis e morte celular (BARBOSA, 2011). A duração e a intensidade dos mecanismos de defesa podem comprometer as funções da pele e determinar desde pequenas mudanças em sua histologia até estágios patológicos com sinais e sintomas clínicos evidentes. Uma das lesões mais prevalentes atualmente são as

úlceras por pressão, responsáveis por causar alterações patológicas na perfusão sanguínea da pele e tecidos subjacentes (BARBOSA, 2011; LUZ et al., 2010).

1.2 ÚLCERAS POR PRESSÃO

A úlcera por pressão é um importante problema de saúde pública em razão de sua alta prevalência. É definida como uma lesão localizada, acometendo pele e/ou tecidos subjacentes, usualmente sobre uma proeminência óssea, resultante de pressão, ou pressão associada a cisalhamento e/ou fricção. Além de ocasionar dano tissular, pode provocar inúmeras complicações e agravar o estado clínico de pessoas com restrição na mobilização do corpo (MEDEIROS; LOPES; JORGE, 2009; WADA; NETO; FERREIRA, 2010).

O emprego de termos cotidianos, como úlceras de decúbito (UD) ou escaras, para referir à patologia têm sido utilizados erroneamente. O termo UD, do latim *“decumbere” que significa deitado*, contempla a ocorrência da lesão em locais acometidos pela pressão exercida sobre proeminências ósseas somente quando o paciente está deitado. Portanto, as lesões que acometem o paciente sentado não podem ser empregadas com esse termo. O mesmo acontece com o termo escara, pois se refere apenas ao tecido necrótico que pode existir sobre a úlcera. Deste modo, uma úlcera por pressão pode estar recoberta por uma escara, ou não, havendo somente a úlcera, sem o tecido necrótico (CATANIA et al., 2007, TCHANQUE-FOSSUO; KUZON, 2011; WADA; NETO; FERREIRA, 2010).

A úlcera por pressão ocorre quando a pressão intersticial excede a pressão intracapilar, ocasionando uma deficiência de perfusão capilar, impedindo o transporte de nutrientes ao tecido. Esta situação é mais comum em áreas de proeminências ósseas, uma vez que quando o paciente está deitado ou sentado está sendo exercida uma pressão da pele e/ou partes moles sobre o osso, maior do que a pressão capilar. Caso esta pressão intersticial mantenha-se alta por um período prolongado, superior ao tempo necessário à recuperação do tecido, a isquemia é mantida e ocorre a liberação de fatores inflamatórios que alteram a permeabilidade vascular, gerando edema e piorando a isquemia. A isquemia ao nível celular resulta na morte das células e com a manutenção do estado inflamatório ocorre desequilíbrio na quantidade de proteínas necessárias a proteção de tecidos lesionados. Com isso, o ciclo de destruição tecidual se intensifica, e a

pressão mantida torna a lesão progressivamente maior e mais intensa, sendo mais susceptíveis à contaminação microbiana (BAUER; PHILLIPS, 2008; CANNON, B.; CANNON, J., 2004; WADA; NETO; FERREIRA, 2010).

Os principais fatores de risco que podem afetar a cicatrização de uma ferida são: idade avançada, as pessoas idosas são mais vulneráveis a infecções; a vasculopatia, comprometimento dos vasos interrompendo o fluxo sanguíneo normal e com isso a diminuição do suprimento nutricional na área afetada; a má nutrição, ou seja, a carência de nutrientes acarreta respostas metabólicas deficitárias; alguns medicamentos interferem diretamente na resposta imunológica do paciente; o fumo reduz a hemoglobina no sangue e pode causar disfunção pulmonar e entre outros (LAX; ALVAREZ; GRUN, 1992; MOCHNAEZ; MURAKAMI, 2000).

O tratamento da úlcera de pressão deve ser sistêmico e envolve uma análise abrangente das condições clínicas do paciente e da lesão. O tratamento envolve uma avaliação do estado nutricional do paciente; limpeza das lesões somente com soro fisiológico e técnicas adequadas de esterilização; a escolha do curativo e em alguns casos a cirurgia (CASTILHO; CALIRI, 2005; LUZ et al., 2010).

Estudos demonstraram que preparações farmacêuticas (pomadas, cremes e óleos) à base de óleos fixos, que possuem em sua composição a associação de triglicerídeos de cadeia média e ácidos graxos essenciais têm sido comumente utilizados para estimular a nutrição celular, a regeneração tecidual e a velocidade de fechamento das feridas (MANHEZI; BACHION; PEREIRA, 2008).

1.3 ÓLEOS FIXOS

Os óleos fixos são misturas de substâncias lipídicas obtidas normalmente a partir de sementes (soja, mamona, girassol, uva, linho, algodão e entre outras) ou da polpa do fruto (azeite de oliva), por prensagem forte e à frio ou sob extração com solvente (SOUZA; MELLO; LOPES, 2011). Apresentam ácidos graxos de forma abundante em sua constituição. Estes compostos consistem em ácidos carboxílicos (-COOH) de cadeia alifática, que são classificados como saturados (geralmente sólidos à temperatura ambiente) ou insaturados (líquidos à temperatura ambiente) (Figura 2).

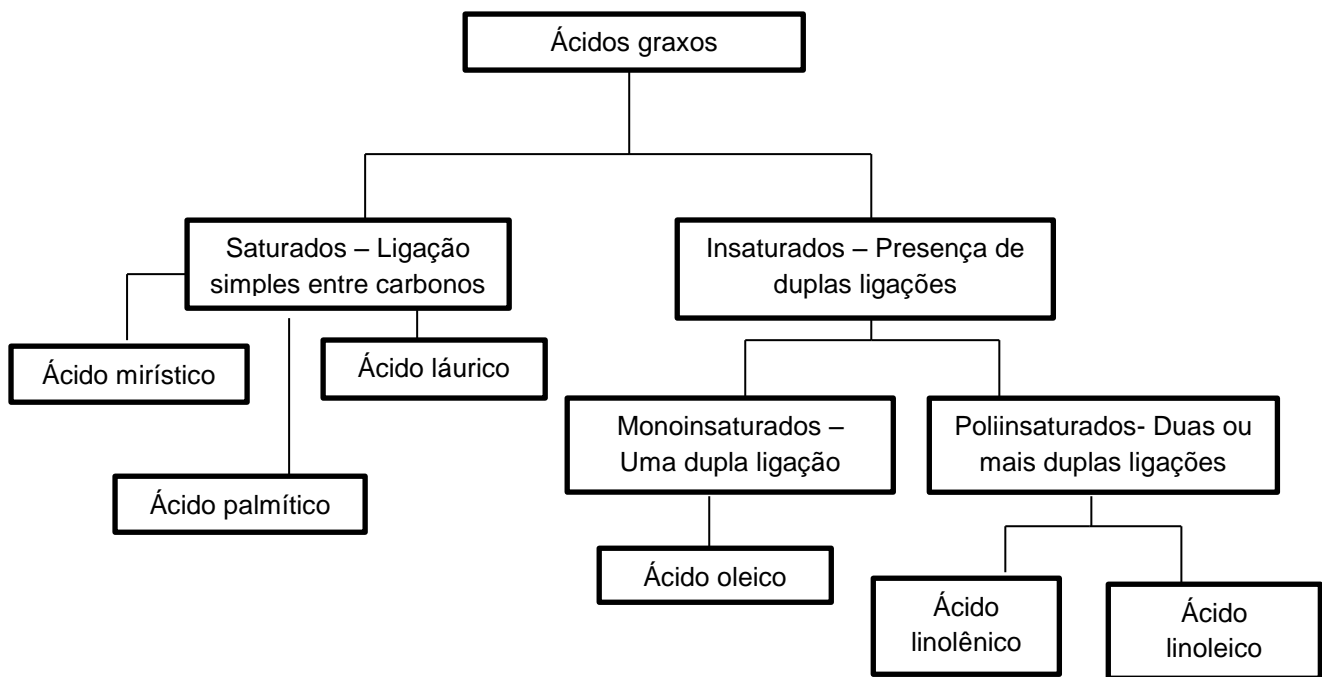


Figura 2 – Fluxograma com a classificação dos ácidos graxos.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os ácidos graxos insaturados, por sua vez, são classificados como monoinsaturados a exemplo do ácido oleico (ômega 9) e os poli-insaturados, como os ácidos linoleico (ômega 6) e linolênico (ômega 3) (Figura 3). O ácido linoleico e o ácido linolênico apesar de apresentarem importantes funções no metabolismo humano, não podem ser sintetizados pelos mamíferos, por não possuírem a enzima delta9-dessaturase, sendo assim chamados de ácidos graxos essenciais (AGE) (FERREIRA et al., 2012).

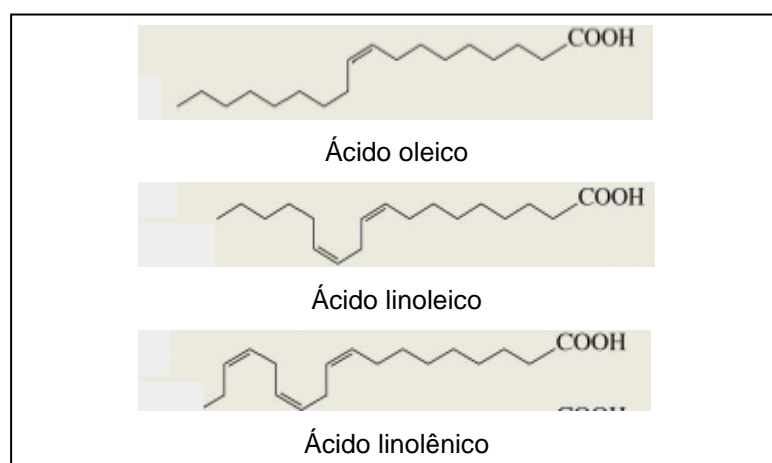


Figura 3 - Ilustração das estruturas dos ácidos graxos insaturados (oleico, linoleico e linolênico).

Fonte: Adaptado de Chaves & Mello-Farias. Bioquímica básica em imagens. Universidade Federal de Pelotas, 2008. Disponível em: <http://www.ufpel.edu.br/iqg/db/Apresenta%E7%F5es_PPT/01%20Introdu%E7%E3o%20a%20Bioquimica%20PDF.pdf>.

A presença de ácidos graxos insaturados em óleos fixos constituintes de preparações farmacêuticas destinadas ao uso tópico para tratamento de feridas é fundamental não somente do ponto de vista terapêutico, como também farmacotécnico (MANHEZI; BACHION; PEREIRA, 2008).

O ácido linoleico acelera o processo de cicatrização, enquanto que o ácido linolênico age como modulador da membrana celular protegendo a lesão e agindo como imunógeno local e também como um importante agente restaurador tecidual (por promover quimiotaxia e angiogênese). (FERREIRA, et al., 2012)

Ressaltando a importância farmacotécnica, o ácido oleico presente em preparações farmacêuticas e cosméticas, como sabões, sabonetes e emulsões confere propriedades de emoliência e lubrificância (DEUS, 2008).

Alguns estudos que relatam as atividades previamente citadas destacam os óleos de girassol, óleo de soja e azeite de oliva, como constituintes da preparação farmacêutica em teste (FERREIRA, et al., 2012; FRANGE; GARCIA, 2009; MANHEZI; BACHION; PEREIRA, 2008; ROCHA et al., 2004; SILVA et al., 2012).

O óleo de girassol é produzido industrialmente a partir das sementes da espécie *Helianthus annuus* L., rico em ácido linoleico e tocoferol (vitamina E), possuindo propriedades antioxidantes e protegendo a membrana celular do ataque dos radicais livres (TOPAN, 2012).

O azeite de oliva obtido do fruto da oliveira (*Olea europaea* L.), rico em ácido oleico, apresentando efeitos moduladores em muitas funções fisiológicas, ao passo que alguns estudos sugerem também um efeito benéfico sobre doenças autoimunes e inflamatórias, além da sua capacidade para facilitar a cicatrização de feridas (SALES et al., 2013).

O óleo de soja é o produto obtido por prensagem mecânica e/ou extração por solvente dos grãos de soja (*Glycine max.* L) sendo este excelente fonte de ácido linoleico (45 a 60%), ácido linolênico (3,5 a 8%) e ácido oleico (19 a 30%) (AMARAL; JAIGOBIND, S; JAIGOBIND, A., 2006).

1.4 DESENVOLVIMENTO DE EMULSÕES

Os óleos fixos são empregados nas formulações e atuam como veículos funcionais, excipientes e constituintes da fase oleosa de emulsões, por exemplo. (FERREIRA et al., 2012; MANHEZI; BACHION; PEREIRA, 2008). Nos últimos anos

o desenvolvimento de novas formulações no mercado farmacêutico e cosmético tem aumentado significativamente, dentre essas, bases dermatológicas e inúmeros ativos de origem vegetal que quando incorporados às preparações farmacêuticas podem dar origem a medicamentos ou cosméticos inovadores. As emulsões têm sido amplamente utilizadas tanto para a incorporação de fármacos, como também de ativos cosméticos (DALLARMI; MIGUEL; CANSIAN, 2012; LANGE; HEBERLÉ; MILÃO, 2009).

As emulsões são sistemas heterogêneos, termodinamicamente instáveis, definidos como a mistura de duas fases líquidas imiscíveis entre si (dispersão), usualmente água e óleo, estabilizadas pela presença de agentes emulsionantes, localizados na interface óleo/água (LACHMAN; LIEBERMAN; KANIG, 2001; FRANGE; GARCIA, 2009; SILVA; SOARES, 1996). As emulsões farmacêuticas, ou cosméticas, podem ser caracterizadas quando as gotículas de óleo estão dispersas na fase aquosa, tem-se uma emulsão óleo-em-água (O/A); sistemas nos quais a água encontra-se dispersa em óleo constituem emulsões água-em-óleo (A/O); também é possível formar emulsões múltiplas, emulsão água-óleo-água (A/O/A) e óleo-água-óleo (O/A/O) (AULTON, 2005; LACHMAN; LIEBERMAN; KANIG, 2001). São classificadas ainda quanto à consistência, sendo denominadas cremes as emulsões semi-sólidas e loções as preparações mais fluidas (AULTON, 2005).

As emulsões são bastante utilizadas popularmente, possuindo uma boa aceitação pelos consumidores por apresentarem características sensoriais agradáveis, além de possibilitarem uma boa permeação cutânea de ativos (BUHLER; FERREIRA, 2008). Alguns estudos científicos demonstraram que nas formulações medicamentosas e cosméticas, sobretudo nas emulsões de aplicação tópica, a inclusão de óleo fixos exercem ação protetora na pele (FERREIRA et al., 2012; MANHEZI; BACHION; PEREIRA, 2008; SOUZA; FERREIRA, 2010).

2. JUSTIFICATIVA

Em algumas regiões do Brasil, a população carente utiliza a mistura de óleos vegetais comestíveis (azeite de oliva, óleos de soja e girassol), em iguais proporções para o tratamento de úlceras por pressão (informação verbal)¹. Estas lesões

¹ Informação fornecida por Lília Maria Cristina Lira de Sá Barreto no posto de saúde do Município de São Caetano – Pernambuco, 2008.

cutâneas são causadas pela constante pressão à pele e ao tecido prejudicando a circulação sanguínea local, podendo agravar-se causando sérias infecções. As úlceras por pressão têm sido alvo de grande preocupação para os serviços de saúde, pois a sua ocorrência causa impacto tanto para os pacientes e seus familiares, quanto para o próprio sistema de saúde, com o prolongamento de internações, riscos de infecção e outros agravos evitáveis (BRASIL, 2013).

A falta de comodidade de aplicação da mistura dos óleos vegetais, devido ao odor característico e textura untuosa, associada ao preço elevado das formulações disponíveis no mercado e a falta de estudos inovadores contendo esses óleos que corroborem efeitos sobre a pele, motivaram a elaboração deste estudo de desenvolvimento de emulsões destinadas à prevenção e/ou adjuvante no tratamento de úlceras por pressão.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver e realizar estudos de estabilidade preliminar de emulsões destinadas à aplicação tópica, contendo óleos vegetais (óleo de soja, óleo de girassol e azeite de oliva) empregando dois diferentes agentes emulsionantes não-iônicos, em associação ou não.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Para alcançar o objetivo geral foram delimitados os seguintes objetivos específicos:

- Elaboração de 3 distintas formulações de emulsões em lote de bancada;
- Observação da estabilidade preliminar, submetendo as formulações à 3 condições diferentes de temperatura, durante 15 dias, avaliando-se:
 - parâmetros organolépticos (aspecto, cor e odor);
 - físico-químico (determinação de pH, espalhabilidade, viscosidade e centrifugação) e
 - microbiológico (contagem microbiana).

4. METODOLOGIA

4.1. COMPONENTES DAS FORMULAÇÕES

Água destilada, azeite de oliva (COCINERO®), óleo de girassol (SALADA®), óleo de soja (SOYA®), glicerina (COLGATE®), tween 20 (DINÂMICA®), álcool cetosteárilico etoxilado (Ce-200) (ALKONAT® CE), carbômero 940 (Sumitomo Chemical), propilparabeno (Ueno Fine Chemicals), metilparabeno (Ueno Fine Chemicals) e butil-hidroxi-tolueno (BHT) (Cromoline), solução de hidróxido de sódio (NaOH) 20% (p/v).

4.2. EQUIPAMENTOS

Balança analítica (SHIMADZU® MOD. AY200), refrigerador (CONSUL® MOD. CRM 45), micro centrífuga microprocessada (HETTICH® MOD. MIKRO 200R), estufa (NOVA ÉTICA® MOD. 402 - 3D), viscosímetro rotativo microprocessado (QUIMIS® MOD. Q 860M21), batedeira planetária (ARNO®), banho-maria com agitação (SOLAB® MOD. SL 155/22), medidor de pH digital (LABMETER® MOD. PHS-3B), disponíveis no laboratório multiuso de Tecnologias da Faculdade de Ceilândia, Universidade de Brasília.

4.3. FORMULAÇÕES

Foi testada a variação de composição qualitativa e quantitativa de agentes emulsificantes não-iônicos, elaborando-se lotes de 3600g de cada preparação. A composição percentual (% p/p) das formulações, assim como a função de cada componente e seus respectivos valores, encontram-se descritos no quadro 1.

Fases	Função dos componentes	Composição	Valor (reais/100g)	F 1 (% p/p)	F 2 (% p/p)	F 3 (% p/p)
Fase oleosa	Princípio ativo, agente oclusivo e de emoliência	Azeite de oliva	0,15	5	5	5
		Óleo de girassol	0,04	5	5	5
		Óleo de soja	0,01	5	5	5
	Agente emulsificante	Tween 20	0,14	5	2,5	-
		Ce-200	0,05	-	2,5	5
Fase aquosa	Sistema conservante	Propilparabeno	0,001	0,02	0,02	0,02
		Metilparabeno	0,02	0,18	0,18	0,18
	Agente de viscosidade	Carbômero 940	0,01	0,25	0,25	0,25
	Umectante	Glicerina	0,06	9	9	9
	Anti-oxidante	BHT	0,01	0,1	0,1	0,1
	Veículo	Água destilada	-	70,45	70,45	70,45

Quadro 1- Componentes das formulações de emulsões à base de óleos vegetais submetidas ao estudo de estabilidade preliminar por 15 dias.

Nota: F1 – formulação 1; F2 – formulação 2 e F3 – formulação 3.

4.4. PROCEDIMENTOS

Para a preparação das formulações, pesaram-se os componentes da fase aquosa e com o auxílio da batedeira planetária dispersou-se o carbômero 940 lentamente, em seguida o pH foi ajustado (pH 5,5) com cerca de 2 mL de solução aquosa de NaOH 20% (p/v). A fase aquosa ficou em repouso durante 24 horas para a completa estabilização do carbômero 940. Após este período pesou-se a fase oleosa com as devidas proporções dos constituintes.

As emulsões foram preparadas, aquecendo-se as fases, oleosa e aquosa, à cerca de 70°C. Em seguida, adicionou-se, lentamente, a fase aquosa sobre a fase oleosa sob agitação, com o auxílio da batedeira planetária, até arrefecimento (20°C - 25°C) (ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2007).

4.5. ESTUDO DE ESTABILIDADE PRELIMINAR

As distintas preparações elaboradas foram acondicionadas em potes de vidro e armazenadas em três condições distintas de temperatura controlada e ao abrigo

da luz: temperatura ambiente (TA), $20 \pm 5^{\circ}$; geladeira (G), $5 \pm 2^{\circ}$ C e estufa (E), $40 \pm 2^{\circ}$ C, por um período de 15 dias, para avaliação de estabilidade preliminar (BRASIL, 2004).

Amostras das formulações objeto de estudo foram submetidas a análises organolépticas, físico-químicas e microbiológicas nos períodos 1, 7 e 15 dias, após a manufatura.

4.5.1 Avaliação organoléptica

As F1, F2 e F3 armazenadas em distintas condições de temperatura foram avaliadas em relação às suas propriedades organolépticas por observação visual a olho nu contra fundo branco, avaliando-se os parâmetros quanto ao aspecto, cor e odor (BRASIL, 2004).

Para análise da associação entre o dia experimental, condição de armazenamento e as formulações utilizou-se o teste do qui-quadrado, com nível de significância de 5%. O programa estatístico utilizado foi o *GraphPrism* versão 5.0.

4.5.2 Avaliação físico-química

4.5.2.1 Determinação de pH

A determinação de pH foi realizada utilizando-se amostras diluídas em água destilada (1:10 p/v), homogeneizadas e submetidas à leitura em pHmetro digital previamente calibrado com soluções de pH 7,0 e 4,0.

4.5.2.2 Teste de centrifugação

A estabilidade após estresse mecânico, teste de centrifugação, foi verificada em micro centrífuga, na qual, foram colocados 1,75 mL das amostras em tubos do tipo *eppendorf* e submetidas a 3000 rotações por minuto (rpm) por 30 minutos à temperatura ambiente. A seguir, as amostras foram analisadas visualmente quanto à separação de fases, cremeação, floculação e outros sinais de instabilidade (BRASIL, 2004; SANCTIS, 1999).

O índice de cremeação foi calculado através da equação:

$$C = 100 \times (V_s/V_t)$$

Onde:

V_s = volume da fase emulsionada e

V_t = volume da amostra.

4.5.2.3 Espalhabilidade

Para determinação da espalhabilidade uma placa-molde circular, de vidro (diâmetro= 20 cm; espessura= 0,3 cm), com orifício central de 1,2 cm de diâmetro, foi colocada sobre uma placa-suporte de vidro (20 cm x 20 cm). Sob essa placa posicionou-se uma folha de papel milimetrado. A amostra foi introduzida no orifício da placa-molde e a superfície foi nivelada com espátula. Após, a placa-molde foi cuidadosamente retirada e sobre a amostra foi colocada uma placa de vidro de peso conhecido. Depois de um minuto, foi realizada a leitura dos diâmetros abrangidos pela amostra, em duas posições opostas, com auxílio da escala do papel milimetrado. Este procedimento foi repetido acrescentando-se sucessivamente novas placas, num total de 5, em intervalos de um minuto, registrando-se a cada determinação a superfície abrangida pela amostra (KNORST, 1991).

A espalhabilidade (E_i) foi calculada através da equação:

$$E_i = \frac{d^2 \times \pi}{4}$$

Onde:

E_i = espalhabilidade (mm^2)

d = diâmetro (mm)

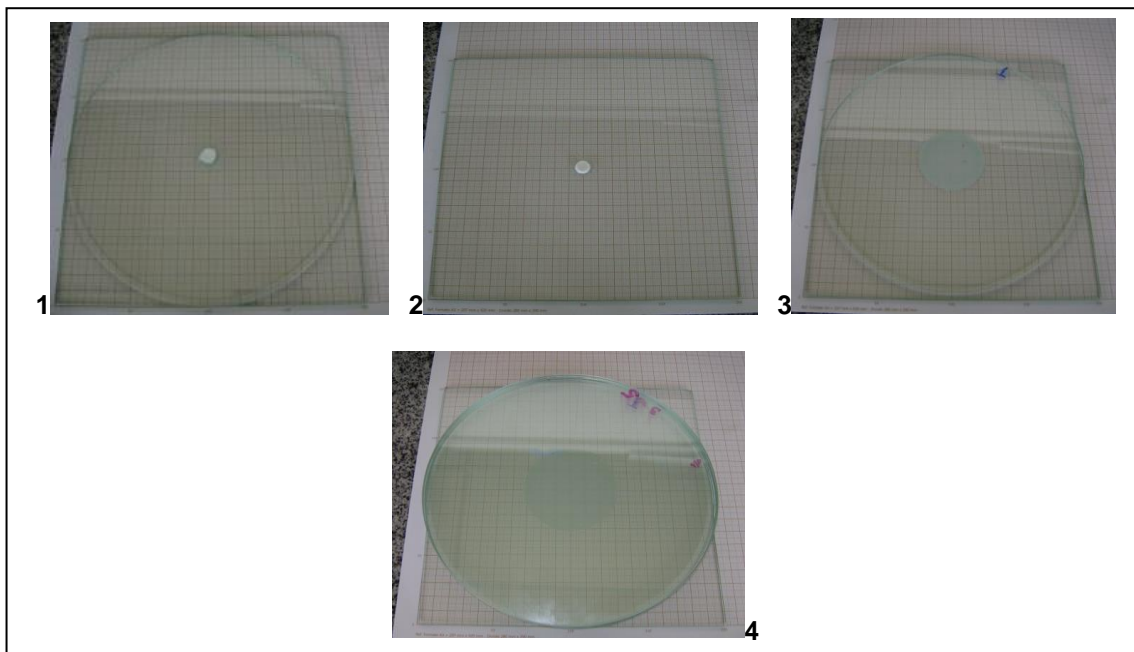


Figura 4 – Representação esquemática do ensaio de espalhabilidade realizado para as emulsões a base de óleos vegetais submetidas ao estudo de estabilidade preliminar por 15 dias. 1 - Montagem do aparato, de baixo para cima, com papel milimetrado, placa 20x20 cm, placa molde circular 20 cm com orifício central, apresentando amostra nivelada no interior; 2 - Retirada da placa molde; 3 e 4 – Colocação de placas circulares (20 cm) em intervalos de 1 minuto.

Fonte: Elaborado pelo autor.

As placas de vidro circular (20 cm) apresentavam os seguintes pesos: placa 1 com 300,72 g; a placa 2 com 302,49 g; placa 3 com 302,70 g; placa 4 com 300,44g; e placa 5 com 301,44g.

A análise estatística realizada entre as diferentes formulações, em um dado tipo de acondicionamento, para um dado dia experimental, foi o teste de Análise de Variância a dois caminhos, com o pós-teste de Bonferroni. O nível de significância adotado foi de 5%. O programa estatístico empregado foi o *GraphPrism* versão 5.0.

4.5.2.4 Viscosidade

A viscosidade foi determinada utilizando viscosímetro rotativo, empregando-se o *spindle* de número 4, e os resultados foram expressos em milipascal (m.Pa). A leitura foi realizada no próprio recipiente em que as formulações foram acondicionadas. O *spindle* foi incorporado à amostra de modo a evitar a formação de bolhas de ar em contato com a superfície do mesmo. As velocidades do rotor empregadas para análise da viscosidade das amostras, com torque próximo a 50%, foram: 40 rpm para F1, 8 rpm para F2 e 15 rpm para F3.

4.5.3 Avaliação microbiológica

A avaliação microbiológica foi realizada em capela de fluxo laminar e utilizou o método de superfície para determinar o número total de bactérias mesófilas e fungos. Alíquotas de 10 g de cada formulação, em duplicata, em suas respectivas condições de armazenamento, foram transferidas para um erlenmeyer contendo 90 mL de água peptonada 0,1% estéril, homogeneizou-se e transferiu 0,1 mL da amostra preparada para placas contendo meio de cultivo ágar caseína-soja e ágar *Sabouraud*-dextrose, para bactérias e fungos, respectivamente (BRASIL, 2010).

Incubaram-se as placas contendo ágar caseína-soja a $32,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 3 - 5 dias e as placas contendo ágar *Sabouraud*-dextrose a $22,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 5 - 7 dias.

Os resultados da análise microbiológica, contagem total de bactérias e fungos foi realizado como o indicado na Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2010), de acordo com a seguinte equação:

Média de colônias x diluição x volume inoculado na placa (mL).

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 AVALIAÇÃO ORGANOLÉPTICA

A avaliação organoléptica permitiu a avaliação de forma simples e rápida, do estado em que se encontravam as formulações em estudo por meio de análises comparativas.

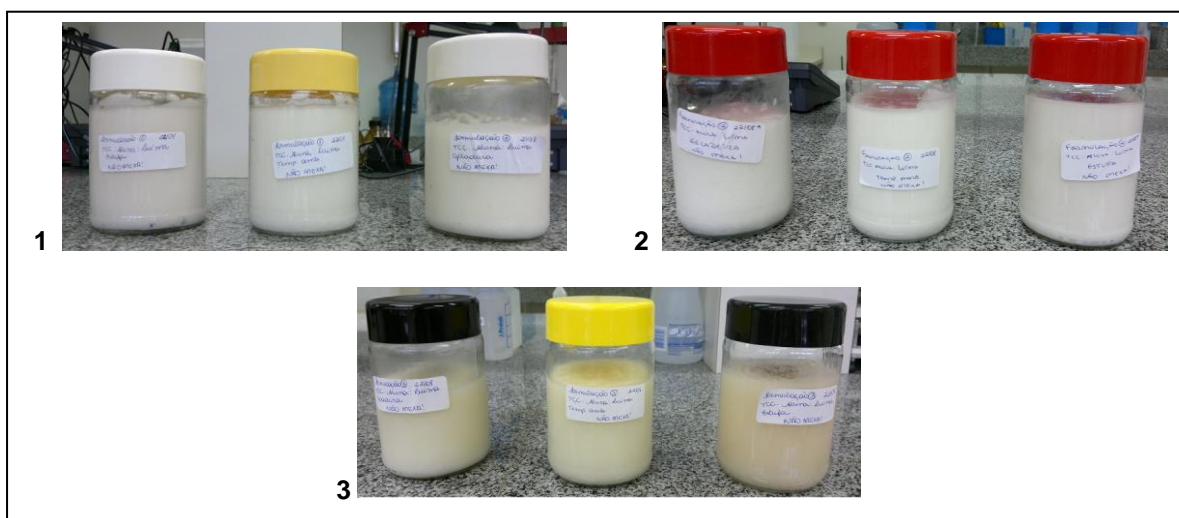


Figura 5 – Formulações acondicionadas em potes de vidro. 1- Formulação 100% Tween 20; 2- Formulação 50% Tween 20 e 50% Ce-200; 3- Formulação 100% Ce-200.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Quanto a coloração, a F1 e F2 foram classificadas com coloração branca no tempo inicial, e a F3, cujo sistema emulgente apresentava 100% de Ce-200, foi classificada com coloração amarela. A tabela 1 ilustra os resultados da análise de variação de coloração para as formulações, considerando os diferentes dias e condições de armazenamento. De sua observação é possível constatar que as alterações presentes para a F3, não foram representativas. A análise estatística deste parâmetro mostrou que não há associação entre a formulação, condição de armazenamento e o dia experimental para qualquer uma das formulações.

A tabela 2 apresenta a análise de variação de odor das formulações, avaliando os diferentes dias e condições de exposição. As formulações foram classificadas inicialmente como inodoras, excluindo-se a F3 que foi caracterizada com leve odor característico de azeite de oliva. Da mesma maneira que o parâmetro avaliado anteriormente, a F3 também apresentou alterações de odor, embora não havendo diferença estatística significativa ($p = 0,223$).

A tabela 3 exibe a análise do aspecto das formulações. Apesar da F1-TA e da F3-E mudarem seu aspecto no 15º dia de estudo, essas alterações não são consideradas significativas estatisticamente.

Os resultados da análise dos parâmetros organolépticos apresentados pelas formulações objeto de estudo diferem dos estudos realizados por Lange, Heberlé e Milão (2009) que avaliaram a estabilidade de emulsão com base não-iônica e

observaram alteração de coloração nas formulações após 15 dias de estudo, fato semelhante observado no estudo de Souza e Ferreira (2010) que realizaram o desenvolvimento e estudo de estabilidade de creme não-iônico com a utilização de álcool cetosteárfílico etoxilado e observaram alteração de aparência nas formulações após 15 dias de estudo. Essas alterações podem estar relacionadas com a ação do calor sobre a preparação, acelerando reações entre os componentes.

Tabela 1 – Distribuição da presença de cor conforme a formulação, a condição de exposição e o dia experimental.

		Dia														
		1					7					15				
		Cor			Cor			Cor			Cor			Cor		
Formulação	Condição	Branca	Amarela	Amarela escura	Marrom clara	Marrom escura	Branca	Amarela	Amarela escura	Marrom clara	Marrom escura	Branca	Amarela	Amarela escura	Marrom clara	Marrom escura
F1 (100% Tween 20)	TA	X					X					X				
	Estufa	X					X					X				
	Geladeira	X					X					X				
F2 (50% Tween 20 + 50% Ce-200)	TA	X					X					X				
	Estufa	X					X					X				
	Geladeira	X					X					X				
F3 (100% Ce-200)	TA		X					X					X			
	Estufa			X						X						X
	Geladeira		X					X					X			

$p > 0,05$ (0,370); teste do χ^2 ; a presença da coloração é indicada por X.

Tabela 2 – Distribuição da presença de odor conforme a formulação, a condição de exposição e o dia experimental.

Formulação	Condição	Dia								
		1			7			15		
		Sem odor	Leve odor característico de azeite de oliva	Odor característico de azeite de oliva	Sem odor	Leve odor característico de azeite de oliva	Odor característico de azeite de oliva	Sem odor	Leve odor característico de azeite de oliva	Odor característico de azeite de oliva
F1 (100% Tween 20)	TA	X			X			X		
	Estufa	X			X			X		
	Geladeira	X			X			X		
F2 (50% Tween 20 + 50% Ce-200)	TA	X			X			X		
	Estufa	X			X			X		
	Geladeira	X			X			X		
F3 (100% Ce-200)	TA		X			X			X	
	Estufa		X			X				X
	Geladeira		X			X			X	

$p > 0,05$ (0,223); teste do χ^2 ; a presença da coloração é indicada por X.

Tabela 3 – Distribuição do aspecto conforme a formulação, a condição de exposição e o dia experimental.

		Dia														
		1				7				15						
		Aspecto				Aspecto				Aspecto						
		Espumosa e pouco brilhosa	Brilhosa	Arenosa e opaca	Espumosa e brilhosa	Arenosa, opaca e com grumos	Espumosa e pouco brilhosa	Brilhosa	Arenosa e opaca	Espumosa e brilhosa	Arenosa, opaca e com grumos	Espumosa e pouco brilhosa	Brilhosa	Arenosa e opaca	Espumosa e brilhosa	Arenosa, opaca e com grumos
F1 (100% Tween 20)	TA	X					X								X	
	Estufa	X					X					X				
	Geladeira	X					X					X				
F2 (50% Tween 20 + 50% Ce-200)	TA		X					X					X			
	Estufa		X					X					X			
	Geladeira		X					X					X			
F3 (100% Ce-200)	TA			X					X							X
	Estufa			X					X					X		
	Geladeira			X					X					X		

$p > 0,05$ (0,223); teste do χ^2 ; a presença do aspecto é indicada por X.

5.2 AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

5.2.1 Determinação do pH

A avaliação do pH é um dos parâmetros utilizados para monitorar alterações na estrutura da formulação que nem sempre são perceptíveis visualmente. Esta análise físico-química pode indicar problemas de estabilidade entre os componentes da formulação podendo ser reações de hidrólise e oxidação ou alterações decorrentes do processo de fabricação, como contaminação bacteriana, comprometendo a qualidade, eficácia e segurança do produto final (BRASIL, 2004; AULTON, 2005).

A maior estabilidade dos sistemas dá-se quando estes são mantidos dentro de uma pequena variação de pH. Desta forma, a diminuição progressiva da estabilidade dá-se quando o pH se afasta de seu limite ótimo (GENNARO, 1999).

Com relação aos resultados da determinação do pH, expostos no quadro 2, todas as formulações apresentaram características fracamente ácidas, por apresentarem valores de pH entre 4,0 e 6,6, durante todo o estudo de estabilidade preliminar (BRASIL, 2010).

Os valores de pH apresentados pela F2 durante o estudo, sugerem comportamento relativamente estável frente às condições testadas. Observou-se também que estes valores permaneceram dentro do limiar de compatibilidade com o pH fisiológico da pele (pH entre 4,6 e 6,0). Diferente das F1 e F3, que apresentaram nas condições de temperatura ambiente e geladeira, respectivamente, valores de pH superiores a 6,0, ou seja, ultrapassaram o limiar estabelecido. Apesar disso, não apresentaram variações marcantes, uma vez que a pele através do seu sistema tamponante consegue manter a homeostase. Entretanto, sugere-se repetição do estudo, em triplicata, para permitir a realização de análise estatística deste parâmetro.

Formulações / Dias	Condições de temperatura de armazenamento								
	5 ± 2° C			20 – 25° C			40 ± 2° C		
	1	7	15	1	7	15	1	7	15
F1 (100% Tween 20)	5,45	5,69	6,09	5,55	5,61	6,26	5,42	5,41	6,08
F2 (50%Tween 20 + 50% Ce-200)	5,66	5,81	6,0	5,58	5,62	5,56	5,75	5,8	5,86
F3 (100% Ce-200)	5,8	6,03	6,45	5,68	5,93	6,10	5,64	5,88	6,03

Quadro 2 - Resultados da medição de pH das formulações elaboradas com óleos vegetais durante o período de 15 dias.

Os estudos de Frange e Garcia (2009), demonstraram que os valores de pH não apresentaram variação significativa no desenvolvimento de emulsões azeite de oliva/água, porém com ligeira diminuição do pH dos sistemas armazenados em estufas e em refrigeradores, sendo indicativos de instabilidade. Segundo Masmoudi et al. (2005), a diminuição do pH pode representar uma oxidação da fase oleosa com formação de hidroperóxidos ou mesmo a hidrólise de triglicerídeos levando a formação de ácidos graxos.

De acordo com Souza e Ferreira (2010) em um trabalho de desenvolvimento e estudos de estabilidade de creme não-iônico com a utilização de álcool cetosteárilico etoxilado os valores de pH não apresentaram alterações marcantes, como também observado neste estudo.

5.2.2 Teste de centrifugação

O ensaio de centrifugação determina o comportamento apresentado pela base emulsionada ao término das condições de estocagem, permitindo, com isso, que se obtenha parâmetros iniciais e finais de comportamento (FRIEDRICH et al, 2007; PRESTES et al, 2009). Esse ensaio possui a finalidade de verificar possíveis instabilidades no sistema, como: cremeação, coalescência, floculação entre outras, pelo aumento da mobilidade das partículas em consequência do aumento da força da gravidade (BRASIL, 2004).

No presente estudo, os resultados obtidos encontram-se expostos no quadro 3. A F2 não apresentou qualquer sinal de separação de fases ou indícios de instabilidade. Entretanto, as F1 e F3 demonstram instabilidade, sendo mais frequente a ocorrência de cremeação para amostras de F1.

Para F1, as amostras armazenadas em todas as condições de temperatura, apresentaram cremeação no 1º dia do estudo de estabilidade. Este fato não persistiu para amostras armazenadas à temperatura ambiente, que no 7º e 15º dias de estudo não apresentaram cremeação após centrifugação.

Ocorrências de cremeação também foram observadas nas amostras de F3, também bastante variáveis, pois ao final do estudo, e sob armazenamento em estufa, não apresentou cremeação.

Entretanto, levando-se em consideração o cálculo realizado para determinação do índice de cremeação, cuja equação encontra-se exposta no item 4.5.2.2, é possível afirmar que apesar de mostrar uma frequência maior, os valores encontrados para a F1 são superiores aos da F3, indicando que esta última é a formulação menos estável. Ainda assim, faz-se necessária a repetição do ensaio, com replicados, para permitir sua análise estatística.

Formulação	Condição de armazenamento	Período de análise (dias) após manufatura das emulsões		
		1	7	15
F1 (100% Tween 20)	TA	C = 71,42	-	-
	E	C = 85,71	C = 71,42	-
	G	C = 71,42	C = 85,71	C = 85,71
F2 (50%Tween 20: 50% Ce-200)	TA	-	-	-
	E	-	-	-
	G	-	-	-
F3 (100% Ce-200)	TA	-	-	C = 85,71
	E	C = 57,14	C = 57,14	C = 42,85
	G	-	-	-

Quadro 3 - Valores de índice de cremeação (%) encontrados para as formulações elaboradas com óleos vegetais e armazenadas em distintas condições de temperatura (TA: temperatura ambiente; E: estufa e G: geladeira).

A instabilidade física do sistema pode-se manifestar através do fenômeno de cremeação, em que as partículas de gotículas da emulsão tendem a se separar do corpo da emulsão, sedimentando ou emergindo, dependendo da diferença de densidade entre as fases (SILVA; SOARES, 1996; PRISTA; ALVES; MORGADO, 2008). A cremeação de emulsões O/A é uma forma de agregação, na qual as gotículas podem ser dispersas novamente por agitação (RIEGER, 1996).



Figura 6 - Emulsões a base de óleos vegetais após processo de centrifugação, indicando ausência de qualquer sinal de instabilidade (esquerda) e cremeação (direita).

Fonte: Elaborado pelo autor

De acordo com Lachman, Lieberman e Kanig (2001), mesmo que ocorra cremeação em uma emulsão, ela pode continuar a ser aceitável do ponto de vista farmacêutico ou cosmético, desde que passível de ser reconstituída por agitação moderada. No entanto, descartam-se essas emulsões porque a cremeação torna o produto pouco estético e distante do padrão de qualidade estimado pelo consumidor. Diferentemente do presente estudo, nos estudos de Frange e Garcia (2009) e Souza e Ferreira (2010) no ensaio de centrifugação as emulsões mantiveram-se estáveis, sem alterações. Como também descrito no estudo de Lange, Heberlé e Milão (2009) que realizaram um estudo de avaliação da estabilidade e atividade antioxidante de uma emulsão com base não-iônica, nenhuma das formulações apresentaram alteração em relação ao aspecto original. Em estudo de avaliação da estabilidade físico-química de emulsão por Prestes et al. (2009) nenhuma das formulações empregadas apresentou instabilidade após centrifugação.

5.2.3 Espalhabilidade

A reologia é o ramo da física que estuda as propriedades de fluxo e deformação da matéria sobre a ação de forças, usada para caracterização e classificação de fluidos e semi-sólidos. As propriedades reológicas de materiais farmacêuticos e/ou cosméticos devem ser bem compreendidas para a preparação, desenvolvimento, avaliação e ao desempenho das formas farmacêuticas (AULTON, 2005). Nas formulações de produtos cosméticos como os cremes e as loções há uma preocupação reológica com a viscosidade adequada e a espalhabilidade (ALMEIDA; BAHIA, 2003).

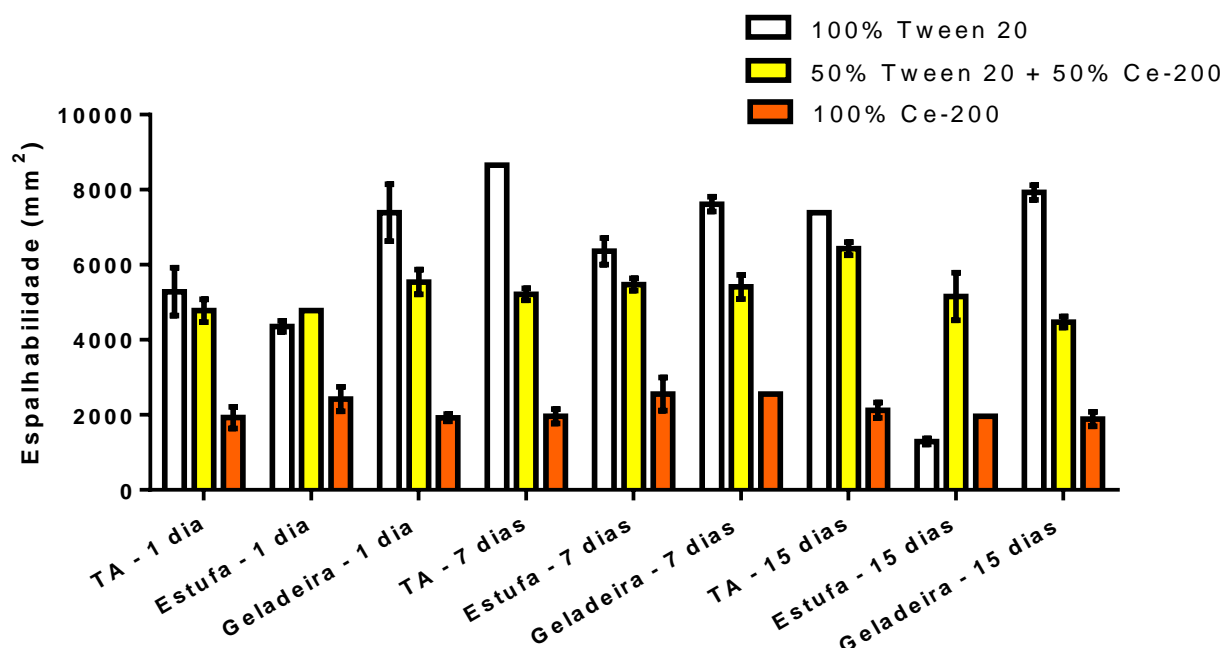
Dentre as características essenciais das formas farmacêuticas destinadas à aplicação tópica, a espalhabilidade assume uma grande importância, pois está intimamente relacionada com a aplicação destas formulações no local de ação (BORGHETTI; KNORST, 2006). A espalhabilidade é considerada um parâmetro de força necessária para aplicar o produto na pele até que ocorra a total penetração (desaparecimento) do produto, sendo que esse parâmetro está diretamente relacionado à viscosidade (CZEPULA, 2006).

Através deste ensaio é possível constatar se as formulações permaneceram com as mesmas propriedades de espalhabilidade após o período de estocagem, nas diversas situações que podem ser submetidas (ALVES et al., 1999).

A avaliação das características reológicas de cremes e loções é de fundamental importância, pois serve como auxílio no prognóstico dos efeitos da formulação e do processamento nas características do produto e na avaliação de sua qualidade e estabilidade (BORGHETTI; KNORST, 2006).

Os dados referentes à espalhabilidade são importantes, pois se as formulações produzidas tiverem melhores características reológicas, elas poderão ser utilizadas de maneira mais agradável no momento da aplicação sobre a pele lesada e em menor quantidade, levando a uma redução do consumo dessa preparação com a mesma eficácia terapêutica (BORELLA et al., 2010).

A representação gráfica da distribuição da espalhabilidade segundo as formulações e as condições de exposição (Figura 7) apresentaram condutas diferentes durante o estudo.



*Nota: as barras indicam as médias e as barras de erro o intervalo de confiança a 95%.

Figura 7 – Gráfico de distribuição da espalhabilidade segundo a formulação e a condição de exposição.

Verificou-se estatisticamente, dentre as três formulações, que: a condição geladeira 1º dia e as demais condições ao longo dos dias experimentais (7º e 15º dias), a F1, com sistema emulgente composto por 100% Tween 20, desenvolveu maiores valores de espalhabilidade.

A F1 apresentou durante todo o estudo diferenças significativas entre as condições de exposição, exibindo valores de espalhabilidade média entre 4000 e 8000mm². Apresentando maior espalhabilidade no 1º e 15º dia, a amostra armazenada sob baixas temperaturas e no 7º dia, a amostra armazenada à temperatura ambiente.

A F2, com sistema emulgente constituído por 50% Tween 20 e 50% Ce-200, apresentou valores de espalhabilidade média mais uniformes durante o estudo, com variações menores em comparação à F1, entre 4000 e 6000mm². No 1º dia de estudo, apenas a amostra acondicionada na geladeira apresentou diferença estatística em relação às amostras acondicionadas nas demais condições de temperatura, expondo maiores valores de espalhabilidade. No 7º dia, a espalhabilidade média se manteve a mesma nas três condições de exposição. E no 15º dia, observou-se que a amostra acondicionada à temperatura ambiente apresentou maior valor de espalhabilidade média.

Durante todo o estudo, amostras da F3 não apresentaram diferenças significativas, com exceção das amostras armazenadas à temperatura ambiente e geladeira no 7º dia após manufatura. Apesar de expor valores com menores oscilações, esta formulação apresenta menor espalhabilidade em comparação às demais, visto que os valores encontrados ocorrem entre 1500 e 3000 mm².

Todas as formulações apresentaram valores crescentes de espalhabilidade com adição de pesos sucessivos, representados pelas placas de vidro. A modo de exemplo, pode-se observar a figura 8 com o gráfico que expõe os valores de espalhabilidade acumulados para a F3, armazenada à temperatura ambiente.

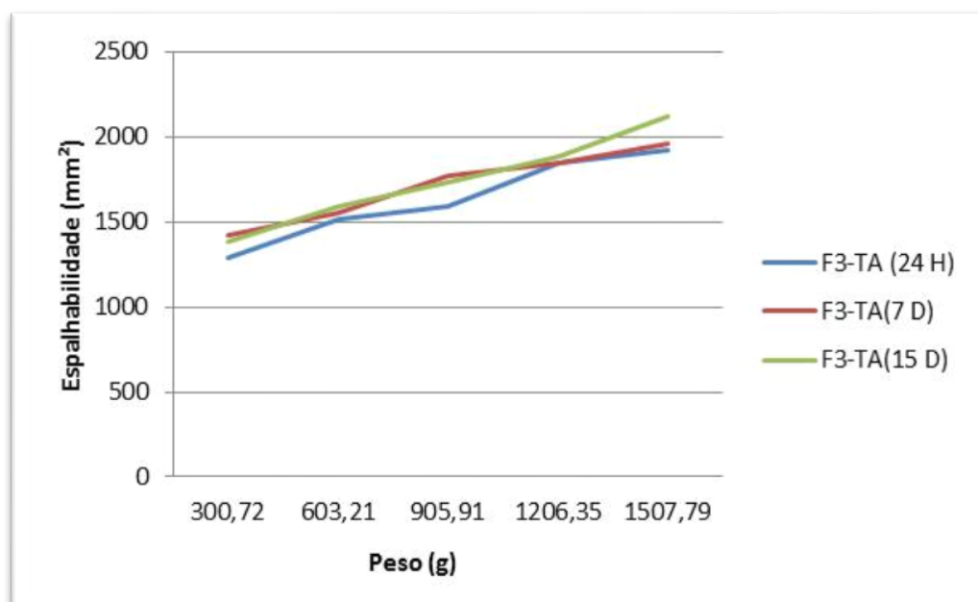


Figura 8 – Gráfico com valores acumulados de espalhabilidade da formulação 3 armazenada à temperatura ambiente durante o estudo de estabilidade preliminar por 15 dias.

Diferentemente do estudo de Friedrich et al. (2007) que avaliou a estabilidade físico-química de creme não iônico, os dados de espalhabilidade revelaram-se com comportamentos semelhantes nas diferentes condições a que foram submetidas. No estudo de Czepula (2006) as formulações apresentaram redução no valor da espalhabilidade, porém as preparações semi-sólidas do tipo creme apresentaram a maior espalhabilidade quando comparadas com pomadas.

5.2.4 Viscosidade

A viscosidade de uma emulsão pode ser alterada pela composição de lipídios, pela proporção entre fase aquosa e oleosa, pela concentração dos emulsionantes. (LACHMAN; LIEBERMAN; KANIG, 2001). A avaliação da viscosidade ajuda a determinar se um produto apresenta a consistência ou fluidez apropriada e pode indicar se a estabilidade é adequada, ou seja, fornece indicação do comportamento do produto ao longo do tempo (BRASIL, 2004).

As F1 e F3 apresentaram-se como preparações fluídas, do tipo loção, enquanto a F2 mostrou-se como um creme bastante consistente. Apesar desta observação, a viscosidade aparente decresce ao comparar F1, F2 e F3, respectivamente (Quadro 4).

Para todas as amostras acondicionadas na estufa e em algumas situações as condições geladeira e ambiente (F1-G e F3-TA), observa-se diminuição da viscosidade ao final do estudo. Este fenômeno pode indicar alterações do agente de viscosidade presente nas formulações longo do tempo, que foi visualmente constatado na F3-TA no 15º dia de ensaio, devido ao aparecimento de grumos do carbômero 940.

Apenas a F2-G exibiu aumento da viscosidade após 15 dias. Isto pode ocorrer em virtude da perda de líquido ao longo do estudo, provavelmente por mal fechamento do envase, deixando a amostra mais consistente.

A inconstância destes resultados são semelhantes a vários estudos. De acordo com Milan et al. (2007), em estudo da hidratação da pele por emulsões cosméticas não-iônicas utilizando álcool cetoestearílico e sua estabilidade por reologia, os valores de viscosidade aparente, observados com viscosímetro rotacional, reduziram após seis meses de estocagem. Nos estudos de Czepula (2006), durante o desenvolvimento de preparações semi-sólidas, foi observado aumento da viscosidade ao longo do tempo.

	1 dia		7 dias		15 dias	
	Torque	Viscosidade	Torque	Viscosidade	Torque	Viscosidade
F1 - TA	45,7	6874,7	47,6	7158	40,7	6118,0
F1 – E	46,1	6944,3	46,6	7014	35	4935,3
F1 – G	46,1	6942,8	53,6	8055,5	33,4	4722,3
F2 – TA	54,5	40923	49,9	37534	51,6	38814
F2 – E	54,6	44030	41,6	31254	41,2	30945
F2 – G	49,4	37184	60,3	45285	76	57153
F3 – TA	51	20466	42,5	17065	31,3	12580
F3 – E	38	15224	30	11743	31,6	12687
F3 – G	49,2	19732	41,9	16810	43	17438

*Para a formulação 1 padronizou velocidade de cisalhamento de 40 rpm; para a formulação 2 velocidade de 8 rpm e para a formulação 3 velocidade de 15 rpm.

** Os valores de torque são expressos em percentagem e os de viscosidade em m.Pa.

Quadro 4 - Análise de viscosidade aparente das formulações de acordo com as condições de armazenamento e dias experimentais

Ainda que informativo, ou seja, não constitui um fator para reprovação do lote em análises de controle de qualidade físico-químico, do ponto de vista farmacotécnico, torna-se fundamental o conhecimento da viscosidade aparente do sistema, pois o comportamento reológico adequado é exigido para que a atividade terapêutica, ou as funções cosméticas do produto, sejam asseguradas (WOOLFSON et al., 2000).

5.3 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA

Durante a realização o estudo de estabilidade preliminar, as placas incubadas com as três emulsões (F1, F2 e F3) elaboradas e submetidas às distintas condições de temperatura de estocagem durante 15 dias, não apresentaram crescimento bacteriano ou de fungos, portanto, as formulações não exibiram contaminação microbiana, apesar de manipulada em ambiente que não atende em sua totalidade aos requisitos de Boas Práticas de Fabricação (BRASIL, 2010). Este fato evidencia a integridade do sistema conservante, representado pelo metilparabeno e propilparabeno, e em adição o BHT, usado como antioxidante das emulsões, mas

que também apresenta ação contra microrganismos (ROWE; SHESKEY; OWEN, 2005).

Em casos de crescimento de microrganismos, se os valores encontrados estiverem dentro dos limites permitidos, a preparação é aceita (BRASIL, 1999). Como ocorreu no trabalho de Deus (2008) em que a contagem de microrganismos mesófilos heterotróficos e bolores e leveduras apresentaram-se dentro dos limites estabelecidos, estando em conformidade com a legislação.

A qualidade microbiológica de um produto constitui um dos atributos essenciais para o seu desempenho adequado, principalmente em relação à segurança, eficácia e aceitabilidade. Entretanto, este constitui um dos aspectos críticos para desenvolvimento de produtos como medicamentos e cosméticos, caracterizados por apresentarem composição complexa, e considerados fontes ricas em nutrientes para o crescimento de microrganismos (YAMAMOTO, 2004).

A contaminação microbiana pode comprometer o desempenho do produto devido à quebra da estabilidade da formulação, alteração das características físicas e aparência, além de levar a inativação dos princípios ativos e excipientes da formulação (YAMAMOTO, 2004).

Para evitar problemas de contaminação microbiológica, é necessário fornecer informações adequadas sobre o uso e conservação do produto. Durante a preparação, o uso de conservantes é fundamental, assim como a assepsia e desinfecção rotineira das instalações e equipamentos (BRASIL, 2004).

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos no estudo de estabilidade preliminar, durante 15 dias, submetendo emulsões O/A dos óleos vegetais: azeite de oliva, óleo de soja e óleo de girassol, contendo diferentes agentes emulsionantes não-iônicos em associação ou não, à distintas condições de temperatura, permitiram a exposição das seguintes conclusões:

✓ A incorporação qualitativa e quantitativa nas formulações de dois agentes emulgentes não-iônicos, Tween 20 e Ce-200, permitiu a obtenção de emulsões com características organolépticas aceitáveis, que se mantiveram durante 15 dias, mesmo sob estresse térmico. Entretanto, a inclusão apenas do Ce-200 dá origem a emulsão de coloração amarelada e com leve odor característico do azeite de oliva, o

que a caracteriza como indesejável, do ponto de vista farmacotécnico, pois não é capaz de mascarar em sua totalidade o odor e cor dos óleos, princípios ativos da preparação.

✓ As características reológicas observadas, para as F1 e F2, exibindo valores superiores de espalhabilidade e viscosidade aparente em comparação a F3, permitiram afirmar que estas preparações apresentam as características essenciais para sua aplicação como medicamento, cosmético ou ainda como base farmacotécnica. Exibindo facilidade de aplicação, devido às características de espalhabilidade e menor probabilidade de apresentação de sinais de instabilidade, devido às características de viscosidade que irá desacelerar o processo de aglomeração das gotículas da fase oleosa dispersa.

✓ A consideração dos parâmetros reológicos, adicionados aos demais caracteres como manutenção do pH durante o estudo, estável frente ao estresse mecânico, excelentes características organolépticas e menor custo, permitiram afirmar que a F2 consiste na preparação de escolha entre as formulações elaboradas.

Como conclusão geral, o trabalho permitiu afirmar que a utilização de iguais proporções de agentes emulsificantes não-iônicos, Tween 20 e Ce-200, na composição de emulsões à base de óleos vegetais, produz sistemas estáveis mesmo em condições de estresse térmico. Além de que a associação de agentes emulsificantes diminui a probabilidade de causar reações alérgicas e tóxicas. Entretanto, faz-se necessária a continuidade dos estudos, realizando-se aproximações tecnológicas com variações quantitativas deste sistema emulgente, assim como a realização do estudo de estabilidade, por um período mais prolongado, e em câmara climática, submetendo as amostras às variações não somente da temperatura, como também de umidade relativa, para que seja encontrado, de fato, o sistema emulsionado mais estável. E a continuação, possibilitará a aplicação desta formulação para a realização de estudos *in vivo*, na busca de comprovação dos benefícios farmacêuticos como adjuvantes no tratamento de úlceras por pressão deste tipo de emulsão à base de óleos vegetais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLEN J. R. L.; POPOVICH N.; ANSEL H. **Formas Farmacêuticas e sistemas de liberação de Fármacos**. 8 ed. Porto Alegre: Artmed, 2007.

ALMEIDA, I. F; BAHIA, M. F. Reologia: Interesse e aplicações na área cosmético-farmacêutica. **Revista Cosmetics & Toiletries**, São Paulo, v. 15, n. 3, p 96 -100 , mai/jun, 2003.

ALVES, M. P. et al. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade de bases dermatológicas não iônicas para incorporação de fármacos. **Revista Pharmaceutical Technology** (edição em português), Santa Maria, v. 23, n. 4, p. 40-45, 1999.

AMARAL, L.; JAIGOBIND, S. J.; JAIGOBIND, A. G. A. **Óleo de soja**. Instituto de Tecnologia do Paraná, 2006. 36 p. Dossiê técnico apresentado ao Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas.

AULTON, M. E. **Delineamento de Formas Farmacêuticas**. 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

BARBOSA, F. DE SOUZA. **Modelo de impedância de ordem fracional para a resposta inflamatória cutânea**. 2011. 107 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) – Instituto Alberto Luiz Coimbra, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

BAUER, J.; PHILLIPS, L. G. Pressure sores. **Plastic and reconstructive surgery**, Galveston, v. 121, n. 1, p. 1-10, jan. 2008.

BORELLA, J. C. et al. Avaliação da espalhabilidade e do teor de flavonoides em forma farmacêutica semissólida contendo extratos de *Calendula officinalis* L. (Asteraceae). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Ribeirão Preto, v. 31, n. 2, p. 193-197, 2010.

BORGHETTI, G. S.; KNORST, M. T. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade física de loções O/A contendo filtros solares. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, Passo Fundo, v. 42, n. 4, p. 531-537, out-dez. 2006.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Farmacopeia Brasileira. Brasília, v.1, p. 546, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de estabilidade de produtos cosméticos**. Brasília, DF: ANVISA, 2004. 52p. (Séries Temáticas. Qualidade, v.1). Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/cosmeticos/guia_series.htm> Acesso em: 07 jul. 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária e Fiocruz. **Protocolo para prevenção de úlcera por pressão**. Brasília, DF: ANVISA e Fiocruz, 2013. 21p. Disponível em: < <http://www.anvisa.gov.br/hotsite/segurancadopaciente/documentos/julho/PROTOCOLO%20ULCERA%20POR%20PRESS%C3%83O.pdf>> Acesso em: 23 out. 2013.

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada nº 17, de 16 de abril de 2010. Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 19 abr 2010. Seção 1, p.97.

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada nº 481, de 23 de setembro de 1999. Estabelece parâmetros para controle microbiológico de Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 27 set 1999. Seção 1.

BUHLER, F. V.; FERREIRA, J. R. N. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade de formulações contendo extratos de *Ilex paraguariensis* St. Hil a 5 e 10%. **Revista Perspectiva**, n. 119, p. 47-55, set. 2008.

CANNON, B. C.; CANNON, J. P. Management of pressure ulcers. **American journal of health-system pharmacy**, v. 61, n. 18, p. 1895-1905, set. 2004.

CASTILHO, L. D.; CALIRI, M. H. L. Úlcera de pressão e estado nutricional: revisão da literatura. **Revista Brasileira de Enfermagem**, São Paulo, v. 58, n. 5, p. 597-601, 2005.

CATANIA, K. et al. Wound wise: PUPPI: the pressure ulcer prevention protocol interventions. **The American journal of nursing**, Columbus, v. 107, n. 4, p. 44-52, 2007.

CZEPULA, A. I. S. Desenvolvimento de preparações semi-sólidas contendo extrato de *Sphagneticola trilobata* (L.) pruski (*Acmela brasiliensis*, *Wedelia paludosa*) (ASTERACEAE) e avaliação da atividade anti-inflamatória tópica *in*

vivo. 2006. 121 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, 2006.

DALLARMI, L.; MIGUEL, M. D.; CANSIAN, F. C. Desenvolvimento de emulsão contendo manteiga de manga (*Mangifera indica* L.). **Revista Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 13, n. 1, p. 31-42, jan-mar. 2012.

DEUS, T. N. **Extração e caracterização de óleo do pequi (*Caryocar brasiliensis* Camb.) para o uso sustentável em formulações cosméticas óleo/água (O/A)**. 2008. 75 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Produção Sustentável) – Universidade Católica de Goiás, Goiânia, 2008.

FERREIRA, A. M. et al. Utilização dos ácidos graxos no tratamento de feridas: uma revisão integrativa da literatura nacional. **Revista da escola de enfermagem**, São Paulo, vol.46, n.3, p. 752-760, 2012.

FRANGE, R. C. C.; GARCIA, M. T. J. Desenvolvimento de emulsões óleo de oliva/água: avaliação da estabilidade física **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Cuiabá, v. 30, n. 3, p. 263-271, 2009.

FRIEDRICH, M. et al. Avaliação da estabilidade físico-química de creme não iônico inscrito no Formulário Nacional. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, n. 4, p. 558-562, 2007.

GARTNER, L. P.; HIATT, J. L. **Tratado de Histologia em cores**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.

GENNARO, A. R. **Remington**: a ciência e a prática da farmácia. 20 ed. Buenos Aires: Médica Panamericana, 1999.

KNORST, M. T. **Desenvolvimento tecnológico de forma farmacêutica plástica contendo extrato concentrado de *Achyrocline satureioides* (Lam.) Compositae - marcela**, 1991. 228 f. Dissertação (Mestrado em Farmácia) - Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 1991.

LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H. A.; KANIG, J. L. **Teoria e prática na indústria farmacêutica**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001. v. 2.

LANGE, M. K.; HEBERLÉ, G.; MILÃO, D. Avaliação da estabilidade e atividade antioxidante de uma emulsão base não-iônica contendo resveratrol. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 45, n. 1, p. 145-151, jan-mar, 2009.

LAX, I. P.; ALVAREZ, S. G.; GRUN, D. Feridas e seus cuidados. São Paulo: Departamento de Serviços Educacionais, 1992.

LEONARDI, G. R.; GASPAR, L. R.; CAMPOS, P. M. B. G. M. Estudo da variação do pH da pele humana exposta à formulação cosmética acrescida ou não das vitaminas A, E ou de ceramida por metodologia não invasiva. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 77, n. 5, p. 563-569, set-out, 2002.

LUZ, S. R. et al. Úlceras de pressão. **Geriatrics & Gerontologia**, Curitiba, v. 4, n. 5, p. 36-43, 2010.

MANHEZI, A. C.; BACHION, M. M.; PEREIRA, A. L. Utilização de ácidos graxos essenciais no tratamento de feridas. **Revista Brasileira de Enfermagem**, Brasília, v. 61, n. 5, p. 620-629, set-out. 2008.

MASMOUDI, H et al. The evaluation of cosmetic and pharmaceutical emulsions aging process using classical techniques and a new method: FTIR. **International journal of pharmaceutics**, v. 289, n.1/2, p. 117-131, 2005.

MEDEIROS, A. B. F.; LOPES, C. H. A. F.; JORGE, M. S. B. Análise da prevenção e tratamento das úlceras por pressão propostos por enfermeiros. **Revista Esc Enferm**, São Paulo, v. 43, n. 1, p. 223-228, 2009.

MENDONÇA, C. C. et al. Emulsões O/A contendo Cetoconazol 2,0%: avaliação da estabilidade acelerada e estudos de liberação *in vitro*. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Cuiabá, v. 30, n. 1, p. 35-46, 2009.

MILAN, A. L. K. et al. Estudo da hidratação da pele por emulsões cosméticas para xerose e sua estabilidade por reologia. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v.43, n. 4, p. 649-657, 2007.

MOCHNAEZ, I.; MURAKAMI, M. Bases do tratamento e prevenção de úlceras por pressão. **Revista Enfermagem UNISA**, Santo Amaro, v. 1, p. 40-43, 2000.

PRESTES, O. S. et al. Avaliação da estabilidade físico-química de emulsão acrescida de uréia dispersada, ou não, em propilenoglicol. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, São Paulo, v. 30, n. 1, p. 38-44, 2009.

PRISTA, L. N.; ALVES, A. C.; MORGADO, R. **Tecnologia farmacêutica**. 7 ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2008. v. 1.

RIBEIRO, C. DE J. **Cosmetologia Aplicada a Dermoestética**. 2 ed. – São Paulo: Pharmabooks Editora, 2010.

RIEGER, M. M. Teste de estabilidade para macroemulsões. **Revista Cosmetics & Toiletries**, São Paulo, v. 8, n. 5, p. 47-53, set-out 1996.

ROCHA, R. P. et al. Estudo comparativo do processo de cicatrização com o uso de óleo de semente de girassol e triglicérides de cadeia média: modelo experimental em ratos. **Scientia medica**, Porto Alegre, v. 14, n. 1, p. 203-208, 2004.

ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J.; OWEN, S. C. **Handbook of pharmaceutical excipients**. 5. ed. Inglaterra: Pharmaceutical Press, 2005. 945 p.

SALES, C. H. et al. An overview of the modulatory effects of oleic acid in health and disease. **Mini reviews in medicinal chemistry**. v. 13, n. 2, p. 201-210, fev. 2013.

SANCTIS, D. S. Emulsões para uso externo. **Revista Racine**, São Paulo, v. 9, n. 53, p. 53-62, 1999.

SILVA, E. C. DA.; SOARES, I. C. Tecnologia das emulsões. **Revista Cosmetics & Toiletries**, São Paulo, v. 8, n. 5, p. 37-46, set-out 1996.

SILVA, M. H. et al. Manejo clínico de úlceras venosas na atenção primária à saúde. **Acta Paulista de Enfermagem**, São Paulo, v. 25, n. 3, p. 329-333, 2012.

SOUZA, G. H. B.; MELLO, J. C. P.; LOPES, N. P. **Farmacognosia: Coletânea Científica**. Ouro Preto: UFOP, 2011.

SOUZA, V. B.; FERREIRA, J. R. N. Desenvolvimento e estudos de estabilidade de cremes e géis contendo sementes e extratos do bagaço da uva Isabel (*Vitis labrusca* L.). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Videira, v. 31, n. 1, p. 217-222, 2010.

TCHANQUE-FOSSUO, C. N.; KUZON, W. M. Jr. An evidence-based approach to pressure sores. **Plastic and reconstructive surgery**, Ann Arbor, v. 127, n. 2, p. 932-939, 2011.

TOPAN, J. F. **Emulsão à base de óleo de girassol (*Helianthus annus* L.) com cristal líquido: avaliação das propriedades físico-químicas e atividade cosmética**. 2012. 94 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

TORTORA, G. J.; GRABOWSKI, S. R. **Princípios de Anatomia e Fisiologia**. 9 ed. – Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

WADA, A.; NETO, N. T.; FERREIRA, M. C. Úlceras por pressão. **Revista Med**, São Paulo, v. 89, n. 3/4, p. 170-177, 2010.

WOOLFSON, A. D. et al. Rheological, mechanical and membrane penetration properties of novel dual drug systems for percutaneous delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 67, n. 2, p. 395-408, jul 2000.

YAMAMOTO, D. C. H. et al. Controle de Qualidade Microbiológica de Produtos Farmacêuticos, Cosméticos e Fitoterápicos Produzidos na Zona da Mata, MG. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA, 2., 2004, Belo Horizonte. **Anais eletrônicos**. Belo Horizonte, set-2004. Disponível em: < <https://www.ufmg.br/congrext/Desen/Desen7.pdf>>. Acesso em: 24 out. 2013.